

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
4. Dezember 2003 (04.12.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 03/099234 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **A61K 6/033**
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP03/05430
- (22) Internationales Anmeldedatum:  
23. Mai 2003 (23.05.2003)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:  
102 23 157.5 24. Mai 2002 (24.05.2002) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V.** [DE/DE]; Hofgartenstr. 8, 80539 München (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **BUSCH, Susanne** [DE/DE]; Wachwitzgrund 72, 01326 Dresden (DE). **KNIEP, Rüdiger** [DE/DE]; Wupperstrasse 26a, 40764 Langenfeld (DE).
- (74) Anwälte: **DEY, Michael** usw.; Weickmann & Weickmann, Postfach 860 820, 81635 München (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: INDUCED REMINERALISATION OF HUMAN TOOTH ENAMEL

(54) Bezeichnung: INDUZIERTER REMINERALISATION VON HUMANEM ZAHNSCHMELZ

(57) Abstract: The invention relates to the induced remineralisation of human tooth enamel and in particular the build up of apatite on tooth material.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Anmeldung betrifft die induzierte Remineralisation von humanem Zahnschmelz und insbesondere den Aufbau von Apatit auf Zahnmateriail.



WO 03/099234 A1

## Induzierte Remineralisation von humanem Zahnschmelz

### Beschreibung

5

Die vorliegende Anmeldung betrifft die induzierte Remineralisation von humanem Zahnschmelz und insbesondere den Aufbau von Apatit auf Zahnmaterial.

10

Zähne sind Verbundstoffe aus Apatit und Proteinen. Es handelt sich bei ihnen um sehr harte Biomaterialien auf der Basis von Calcium und Phosphat. Der Zahnschmelz, die äußere Schicht der Zahnkrone ist der härteste Teil des Zahns und enthält keine lebenden Zellen. Zahnschmelz besteht aus anorganischen Kristallen, welche typische hoch orientierte Anordnungen aufweisen. Zahnschmelz ist ein Gewebe, das, sobald es einmal gebildet ist, lebenslang nahezu unverändert bleibt, da die Zellen, welche beim Aufbau der Zähne beteiligt sind, absterben, sobald die Zahnbildung abgeschlossen ist. Ein fertiger Zahnschmelz besteht aus etwa 95 Gew.-% Apatit, etwa 3 Gew.-% Proteinen und Lipiden und etwa 2 Gew.-% Wasser.

15

Um Schädigungen von Zähnen, insbesondere durch Karies zu vermeiden oder zu reparieren, wurde seit langem versucht, remineralisierende Systeme einzusetzen. Dabei wurde zunächst versucht, durch Aufbringen von Calciumphosphatverbindungen die Beschaffenheit der Zähne zu verbessern. Solche Einkomponentensysteme, bei denen versucht wird, bereits vorgefertigtes Zahnmaterial, beispielsweise Apatit, Hydroxyapatit oder andere Calciumphosphatverbindungen auf die Zähne aufzubringen, sind unter anderem in EP 0 666 730 B1 oder WO 01/95863 beschrieben. Das Problem solcher Systeme besteht darin, dass das Behandeln von Zahnmaterial mit Calciumphosphatverbindungen nicht zu einem Aufwachsen von strukturell dem Zahnmaterial ähnlichem Apatit führt,

20

25

30

- 2 -

sondern vielmehr zu einer bloßen Anlagerung von Apatitkristallen auf dem Zahnmaterial, wobei die Apatitkristalle eine vom Zahnmaterial völlig unterschiedliche Morphologie aufweisen. Somit wird keine Festigung des Zahnschmelzes oder dauerhafte Füllung von Läsionen bewirkt, da die  
5 angelagerten Apatitkristalle keine ausreichende Ähnlichkeit und Haftung zum natürlichen Zahnmaterial aufweisen.

Weiterhin wurde versucht mit Zweikomponentensystemen eine Remineralisierung von Zähnen zu erhalten, wobei die Systeme  
10 üblicherweise eine Calciumphase sowie eine Phosphatphase umfassen. Zweikomponentensysteme sind beispielsweise in WO 98/10736 und DE 33 03 937 A1 beschrieben. Nachteilig bei den dort beschriebenen Vorgehensweisen ist, dass die in WO98/10736 beschriebene Methode Calcium- und Phosphatlösungen vor der Anwendung vereinigt, sodass sich  
15 eine metastabile Lösung bildet, aus der auf dem Zahn Apatit auskristallisieren soll. Die Methode erlaubt keine lokalisierte Behandlung am Zahn, da das Reagenz als Mundspülung oder Gel eingesetzt wird, das mit der Zahnbürste einmassiert wird. Weiterhin wird die Kompositnatur des nativen Schmelzes nicht berücksichtigt, da im System keine organische  
20 Komponente enthalten ist. Die Bildung zahnschmelzähnlicher Kristallite ist demnach unwahrscheinlich. DE 33 03 937 beschreibt ein Verfahren, bei dem Calcium- und Phosphationen getrennt nacheinander auf den Zahn aufgebracht werden, indem dieser in eine Kappe getaucht wird, welche die entsprechenden Ionen in einer Gelatinematrix enthält. Bei einer  
25 empfohlenen Einwirkungszeit von nur zwei Minuten ist nicht zu erwarten, dass sich wirklich größere Mengen Apatit auf der Zahnoberfläche bilden können. Es ist nicht mit Bildmaterial belegt, dass die neugebildete Apatitschicht schmelzähnliche Strukturen aufweist.

30 In weiteren Arbeiten (S. Busch et al., Eur. J. Inorg. Chem. (1999), 1643-1653; S. Busch et al., Chem. Mater. 13 (2001), 3260-3271; S. Busch, Zahnärztliche Mitteilungen 91, Nr. 10 (2001), 34-38; R. Kniep et al.,

- 3 -

- Angew. Chem. 108, Nr. 22 (1996), 2787-2791) wurde die biomimetische Morphogenese von Fluorapatit-Gelatinkompositen untersucht. Dabei wurde biomimetisches Wachstum und Selbstorganisation von Fluorapatit-Aggregaten durch Diffusion in denaturierten Collagen-Matrizes beobachtet.
- 5 Die Grundlagen der Fluorapatitbildung in Gelatine-Gelen wurde dabei mittels Doppeldiffusionsversuchen von Calcium- und Phosphatlösungen in einem U-Rohr untersucht. Diese Arbeiten beschreiben die Bildung von Fluorapatitkügelchen innerhalb des verwendeten Gels.
- 10 Eine Aufgabe der vorliegenden Anmeldung war es, ein Verfahren bereitzustellen, mit dem Defekte an Zahnmaterial durch Remineralisation ausgebessert werden können. Eine weitere Aufgabe war es, Zahnmaterial mit einer schützenden Apatitschicht zu bedecken.
- 15 Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch ein Verfahren zum Aufwachsen von Apatit auf Zahnmaterial, umfassend die Schritte:
- (i) Auftragen eines ersten Gels, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst,
  - (ii) Auftragen eines zweiten Gels, wobei mit diesem zweiten Gel die
  - 20 erste Gelschicht abgedeckt wird und
  - (iii) Auftragen eines Calciumionen enthaltenden Mediums,
- wobei ein Aufbau von Apatit an der Oberfläche des Zahnmaterials bewirkt wird.
- 25 Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung
- (i) eines ersten Gels, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst,
  - (ii) eines zweiten Gels, welches frei von Phosphationen ist, wobei mit diesem zweiten Gel die erste Gelschicht abgedeckt wird und
  - (iii) eines Calciumionen enthaltenden Mediums,
- 30 zur Herstellung eines Mittels bzw. eines Kits zum Aufwachsen von Apatit auf Zahnmaterial.

- 4 -

Erfindungsgemäß ist es überraschenderweise möglich, ein wirkliches Aufwachsen von Zahnschmelz-ähnlichem Material zu erzielen. Ein wesentlicher Vorteil besteht darin, dass eine hohe Ordnung kleiner Apatitnadeln erhalten wird, die strukturell eine große Ähnlichkeit zu nativem Zahnschmelz aufweisen. Bei entsprechender Substratorientierung ist praktisch kein Unterschied zwischen aufgewachsenem Apatit und ursprünglichem Zahnmaterial zu erkennen.

Weitere Vorteile der Erfindung sind, dass von einem echten Aufwachsen der Fluorapatitkristallite auf dem Zahnsubstrat ausgegangen werden kann, wie die REM-Bilder belegen. Die Vickers-Härte dieser neuen Schicht entspricht dem natürlichen Schmelz. Die Durchführung der einzelnen Schritte ist so einfach, dass die Remineralisation von Zahnschmelz im Prinzip vom Patienten selbst durchgeführt werden kann. Das Gel kann lokal auf die geschädigten Stellen aufgetragen werden und verfestigt sich dort. Da das erwärmte Gel sehr schnell abkühlt, sind kaum Wartezeiten zwischen den einzelnen Schritten nötig.

Da die Erweichungstemperatur des Gels etwas über der normalen Körpertemperatur liegt (38 bis 42 °C), wird ein Schmelzen des Gels während der Einwirkungsdauer verhindert. Damit kann eine unkontrollierte Mineralisation vermieden werden.

Durch Zugabe von Fluoridionen zum phosphathaltigen Gel kann die Resistenz der Schicht gegenüber Säuren erhöht werden.

Erfindungsgemäß ist es möglich durch induzierte Remineralisation Zahnschmelzdefekte zu regenerieren. Durch den Einsatz eines zweischichtigen Gels, welches bei Körpertemperatur fest ist und lokal auf die betroffene Stelle am Zahn aufgebracht werden kann sowie durch die Verwendung einer Mundspülung als Calciumionen enthaltenden Medium werden Mineralisationsbedingungen geschaffen, welche die Bildung einer

- 5 -

Zahnschmelz-ähnlichen Substanz bewirken, die direkt auf dem Zahn aufwächst. Bei der bisher veröffentlichten Doppeldiffusionsmethode wurde lediglich gezeigt, dass Fluorapatit, der durch Gegenstromdiffusion von Calcium- und Phosphationen in einem Gelatinegel entsteht, kugelige Aggregate bildet, deren organischer Gewichtsanteil dem von reifem, menschlichem Zahnschmelz entspricht. Die Doppeldiffusionsmethode hat aber weder eine Möglichkeit eröffnet, am Menschen die Remineralisation von Zahnschmelz zu ermöglichen noch diese Möglichkeit in irgendeiner Weise impliziert. Der bei der Doppeldiffusionsmethode eingesetzte Versuchsaufbau bewirkt die Bildung von kleinen Kügelchen und erlaubt nicht das Aufwachsen von gleichmäßigen Schichten von Apatitmaterial auf einem Substrat. Dies ist erst durch die erfindungsgemäße Vorgehensweise möglich.

Die Erfindung lässt sich insbesondere beim Menschen anwenden. Dabei können beispielsweise kleinere kariöse Defekte durch induzierte Remineralisation ausgeheilt oder empfindliche Stellen am Zahn mit einer schützenden Apatitschicht bedeckt werden. Die Vorgehensweise zur Behandlung ist dabei bevorzugt wie folgt: Die kariöse Stelle wird zunächst mit einer dünnen Schicht des etwa 50 °C warmen phosphathaltigen Gels bestrichen oder mit einer geeigneten Spritze aufgetragen, die gewärmt werden kann. Das Gel erstarrt sofort auf der Zahnoberfläche und wird nach der gleichen Methode mit dem Schutzgel abgedeckt. 1 bis 3 mal am Tag wird dann mit der Calciumlösung eine etwa 10-minütige Mundspülung durchgeführt. Zwischen den Spülungen wird der Zahn mit einer passenden Kappe abgedeckt, die aus Plastik oder Metall sein kann, sodass der Patient nicht behindert ist und die Remineralisation ungestört stattfinden kann. Wenn viele Zähne betroffen sind, kann auch die ganze Zahnreihe mit einer Schiene geschützt werden, wie sie z.B. gegen Zähneknirschen eingesetzt wird. Alle zwei Tage wird das Gel gewechselt, zu dieser Gelegenheit wird der betroffene Zahn gereinigt und desinfiziert.

- 6 -

Erfindungsgemäß wird zunächst auf das Zahnmaterial ein erstes Gel aufgebracht. Dieses Gel enthält Gelatine sowie Phosphationen und gegebenenfalls weitere Bestandteile. Der Gehalt an Gelatine im ersten Gel beträgt bevorzugt von mindestens 15 Gew.-%, mehr bevorzugt von 25 Gew.-% bis zu 40 Gew.-%, mehr bevorzugt bis zu 30 Gew.-%. Der Gelatine kommt insbesondere eine Funktion bei der Ausbildung der Morphologie des gebildeten Apatits zu. Es wurde überraschenderweise festgestellt, dass bei der Verwendung von Gelatine ein Apatitmaterial an der Oberfläche von Zahnmaterial abgeschieden wird, welches eine große Ähnlichkeit mit nativem Zahnschmelz aufweist. Bei Verwendung anderer organischer Matrices wurden hingegen andere Morphologien der Apatitkristallisate beobachtet, sodass es nicht zu einem Aufbau von Apatit an der Oberfläche des Zahnmaterials, wie erfindungsgemäß angestrebt, kommt.

Gelatine ist ein Polypeptid, welches insbesondere durch Hydrolyse des in Haut und Knochen von Tieren enthaltenen Collagens gewonnen werden kann. Gelatine weist üblicherweise ein Molekulargewicht von 15.000 bis über 250.000 g/mol auf und kann aus Collagen unter sauren oder alkalischen Bedingungen gewonnen werden. Erfindungsgemäß bevorzugt werden folgende Gelatinen eingesetzt: Sauer hydrolysierte Gelatinesorten (Typ A), z.B. hergestellt aus Schweineschwarte oder Kalbshaut mit hohem Bloom-Wert, z.B. 250 bis 350 Bloom (unter dem Bloomwert versteht man eine Kenngröße, welche die Gelfestigkeit kennzeichnet, im Allgemeinen gilt, je höher der Bloomwert, umso höher der Anteil langkettiger Moleküle in der Gelatine und um so höher die Gelfestigkeit).

Neben Gelatine, welche zur Ausbildung der gewünschten Morphologie des Apatits und den Aufbau an der Oberfläche des Zahnmaterials enthalten ist, umfasst das erste Gel weiterhin Phosphationen. Diese Phosphationen stellen einen Grundbestandteil des aus Calciumphosphat aufgebauten Apatits dar. Die Konzentration der Phosphationen im ersten Gel beträgt

- 7 -

bevorzugt mindestens 0,01 mol/l, mehr bevorzugt mindestens 0,05 mol/l und bis zu 0,5 mol/l, mehr bevorzugt bis zu 0,2 mol/l und insbesondere 0,08 mol/l.

5 Das erste Gel weist bevorzugt eine Erweichungstemperatur auf, die über der normalen Körpertemperatur liegt, sodass das Gel bei Körpertemperatur fest ist. Die Erweichungstemperatur des ersten Gels liegt bevorzugt im Bereich von 38 bis 45 °C, mehr bevorzugt von 38 bis 42 °C. Das erste Gel wird bevorzugt in erwärmter Form, beispielsweise auf 45 bis 55 °C  
10 erwärmt aufgetragen. Nach dem Auftragen kühlt das Gel ab und wird fest.

Erfindungsgemäß wird in einem weiteren Schritt ein zweites Gel, ein sogenanntes Schutzgel aufgetragen. Mit diesem zweiten Gel wird insbesondere die erste Gelschicht abgedeckt. Das Schutzgel, welches als  
15 Geldeckschicht fungiert, bewirkt überraschenderweise, dass die Mineralisation, also die Bildung von Apatit, überwiegend oder ausschließlich an der Zahnoberfläche und nicht an der Grenzschicht Gel-Flüssigkeit stattfindet. Durch den zweischichtigen Gelaufbau, der beim erfindungsgemäßen Verfahren erzielt wird, kommt es überraschenderweise  
20 zu einem Aufbau bzw. Aufwachsen von Apatit auf dem Zahnmaterial und nicht zu einer Kristallisation oder Ausbildung von Apatitkugeln innerhalb des Gels, wie es im Stand der Technik beschrieben wird. Nur durch den zweischichtigen Aufbau ist somit eine praktikable und technisch sinnvolle Remineralisation der Zähne möglich.

25 Der pH-Wert und die Gelkonzentrationen des zweiten Gels entsprechen typischerweise denen, die hierin für das erste Gel angegeben sind. Auch das zweite Gel weist bevorzugt eine Erweichungstemperatur von 38 bis 45 °C, insbesondere von 38 bis 42 °C auf und wird bevorzugt auf 45 bis 55  
30 °C erwärmt aufgebracht.



- 8 -

In einem dritten Schritt wird schließlich ein Calciumionen enthaltendes Medium aufgebracht. Das Calciumionen enthaltende Medium stellt den weiteren zur Bildung von Apatit benötigten Grundbaustoff, nämlich Calciumionen bereit. Diese Calciumionen diffundieren durch das Schutzgel und die erste Gelschicht bis zur Oberfläche des Zahnmateri-  
5 als Apatit abgeschieden. Die Konzentration der Calciumionen im Calciumionen enthaltenden Medium beträgt vorzugsweise mindestens 0,01 mol/l, mehr bevorzugt mindestens 0,05 mol/l und bis zu 0,5 mol/l, mehr bevorzugt bis zu 0,2 mol/l und insbesondere 0,13 mol/l.

Es wurde festgestellt, dass erfindungsgemäß überraschenderweise eine gleichmäßige Schicht paralleler oder strahlig gewachsener Apatitkristallite gebildet werden kann. Weiterhin zeigt diese Schicht keinen oder nur einen Submikrometer großen Randspalt zum nativen Zahnmaterial auf. Die  
15 Wachstumsrichtung der Apatitkristallite erfolgt unabhängig von der Orientierung der Schmelzprismen senkrecht zum Substrat, sodass bei entsprechender Orientierung der Schmelzprismen die Längsorientierung der künstlich aufgewachsenen Kristalle weitgehend identisch mit den Kristallen in den Prismen verläuft. Die Größenordnung von Schmelzkristallen und aufgewachsenem Fluorapatit ist gleich. Innerhalb der Schichten kann eine  
20 dichte und gleichmäßige Packung beobachtet werden. Weiterhin weist die aufgebrachte Apatitschicht eine Vickers-Härte auf, die der vom nativen Zahnschmelz entspricht. Die erfindungsgemäß aufgebrachten Apatitschichten weisen insbesondere eine Vickers-Härte im Bereich von  
25 250 bis 400 HV auf.

Erfindungsgemäß ist es möglich, Apatitschichten in beliebiger Dicke aufzubringen, da die erreichte Schichtdicke von der Häufigkeit des Gelwechsels abhängig ist. Pro Gelwechsel können bisher Schichtdicken  
30 von bis zu 1  $\mu\text{m}$  erzielt werden.

- 9 -

In einer bevorzugten Ausführungsform wird als erstes Gel ein Gelatine-Glycerin-Gel eingesetzt. Das Gewichtsverhältnis von Gelatine zu Glycerin beträgt dabei bevorzugt 1:5 bis 5:1, insbesondere 1:2 bis 2:1. Glycerin hat die Wirkung, dass der Erweichungspunkt des Gels über die normale menschliche Körpertemperatur angehoben wird. Die erzielte Gelfestigkeit ist  
5 notwendig, um das Zweischichtsystem während der Mineralisation zu erhalten, sodass eine gezielte, kontrollierte Kristallabscheidung ermöglicht wird. In einem flüssigen Gel würde es zu einer spontanen Präzipitation feinkristallinen Materials kommen, welches nicht am Zahn anwächst.

10 Das erste Gel enthält bevorzugt weiterhin Fluoridionen. Das Fluorid kann beispielsweise als Natriumfluorid oder Ammoniumfluorid zugegeben werden. In dieser Ausführungsform kann Fluor-reicher Apatit oder Fluorapatit auf der Oberfläche des Zahnmaterials aufgewachsen werden.  
15 Fluorapatit ist insbesondere säureresistenter als der Carbonat-haltige Hydroxyapatit des natürlichen Zahnschmelzes, wobei die Morphologie der sich bildenden Schichten aus Fluorapatit dennoch eine große Ähnlichkeit mit nativem Zahnschmelz aufweist.

20 Die Wachstumsgeschwindigkeit des Apatits oder Fluorapatits wird unter anderem durch den pH-Wert des ersten Gels bestimmt. Bevorzugt weist das erste Gel einen pH-Wert von 2,0 bis 6,0, insbesondere von 4,0 bis 6,0, mehr bevorzugt von 5,0 bis 5,5 auf.

25 Ein wesentliches Merkmal der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung eines Schutzgels als zweites Gel. Mit diesem Schutzgel wird die Phosphationen-haltige erste Gelschicht abgedeckt. Durch Verwendung dieser Schutzgelschicht findet überraschenderweise die Apatitbildung ausschließlich an der Oberfläche des Zahnmaterials statt und es kommt  
30 nicht zu einer spontanen Auskristallisierung von Apatitkristalliten oder Kompositaggregaten, wie sie bei den im Stand der Technik bekannten Vorgehensweisen beobachtet wird. Im Gegensatz zu den Untersuchungen

- 10 -

mit Doppeldiffusionskammern kann somit gezielt eine Beschichtung von Zahnmaterialoberflächen erhalten werden. Das zweite Gel enthält vorzugsweise keine Materialien, die in den Apatit eingebaut werden sollen, ist also insbesondere Phosphationen-, Calciumionen- und/oder Fluorionen-  
5 frei. Zur Bildung des zweiten Gels kann ebenfalls Gelatine eingesetzt werden, wobei ein Gelatine-Glycerin-Gel bevorzugt ist. Als zweites Gel kann aber auch ein anderes Gel, z.B. ausgewählt aus Polysacchariden, etwa Agarose oder Carragnan, sowie Carboxymethylcellulose verwendet werden.

10 Erfindungsgemäß wird schließlich das mit ersten Gel und Schutzgel beschichtete Zahnmaterial mit einem Calcium enthaltenden Medium behandelt. Als Calcium enthaltendes Medium kann beispielsweise eine Calciumionen enthaltende Lösung oder/und ein Calciumionen enthaltendes  
15 Gel eingesetzt werden. Das Calciumionen enthaltende Medium wird dabei bevorzugt unter Verwendung eines wasserlöslichen Calciumionen enthaltenden Salzes, beispielsweise aus  $\text{CaCl}_2$  hergestellt.

Das Calciumionen enthaltende Medium weist bevorzugt einen pH-Wert von  
20 6 bis 8 auf.

Erfindungsgemäß werden somit die beiden Bestandteile von Apatit, nämlich Phosphationen und Calciumionen jeweils getrennt als eigene Komponente zugeführt, wobei die Calciumphosphatbildung dann erst auf der  
25 Zahnmaterialoberfläche stattfindet.

Um ein lokales Übersäuern an der Mineralisationsfront durch die Protonenabgabe bei der Apatitbildung zu verhindern, wird das Phosphatgel bevorzugt mit einem Puffersystem versetzt, bevorzugt einem  
30 Essigsäurepuffer oder  $\alpha$ - $\alpha$ - $\alpha$ -Tris-(hydroxymethyl)methylamin-Puffer.

- 11 -

Vor der Behandlung mit dem ersten Gel kann das Zahnmaterial vorbehandelt werden, insbesondere entfettet, angeätzt oder/und gespült werden. Beispielsweise kann für eine bessere Wirksamkeit die Zahnoberfläche zunächst mit Ethanol entfettet und mit Phosphorsäure angeätzt und anschließend mit entionisiertem Wasser gespült werden.

Das erfindungsgemäße Verfahren eignet sich insbesondere zur Behandlung von Humanzähnen oder Zahnschmelz. Dabei können kariöse Defekte durch Remineralisation behandelt werden oder aber auch das Zahnmaterial prophylaktisch mit einer schützenden Apatit- oder Fluorapatitschicht bedeckt werden. Die Apatitschichten bilden sich sowohl auf Zahnschmelz als auch auf Dentin als Substrat.

Die Erfindung betrifft weiterhin eine Zusammensetzung bzw. einen Kit, welche bzw. welcher insbesondere für die oben beschriebene Verwendung geeignet ist und

- a) ein erstes Gel, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst,
- b) ein zweites Gel, welches frei von Phosphationen ist sowie
- c) ein Calciumionen enthaltendes Medium umfasst.

Die bevorzugten Ausgestaltungen des ersten und zweiten Gels sowie des Calciumionen enthaltenden Mediums sind dabei wie oben beschrieben.

Die Erfindung wird durch die beigefügten Figuren und die folgenden Beispiele weiter erläutert.

Die Figuren 1 bis 6 zeigen REM-Aufnahmen von auf Zahnmaterial aufgewachsenem Apatit.

## Beispiele

### Beispiel 1

- 12 -

### Schritt 1. Vorbereitung des Zahnmaterials

Ein humaner Zahn (beliebig) wurde von seiner Wurzel getrennt und die Krone in etwa 0,5 mm breite Scheiben gesägt und zwar so, dass die Längsachse der Schmelzprismen schräg zur Schnittrichtung orientiert war.

5 Die Scheiben wurden 30 s lang in einer 30 %-igen Phosphorsäurelösung getaucht, mit entionsiertem Wasser gewaschen und getrocknet.

### Schritt 2. Vorbereitung des Gels

10 Aus 8,56 g Gelatine, 8,24 g 85 %-iger Glycerinlösung, 7,26 g H<sub>2</sub>O, 1,8 ml 2N NaOH, 2,7 ml 2 N HAc, 13,8 mg NaF, 236 mg Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> wurde bei 80 °C unter Rühren ein homogenes Gel hergestellt, dessen pH-Wert bei 5,0 lag. Ein weiteres Gel wurde aus 8,56 g Gelatine, 8,24 g 85 %-iger Glycerinlösung und 11,76 g H<sub>2</sub>O hergestellt. Eine 0,133 molare Calciumlösung wurde aus CaCl<sub>2</sub>-Salz hergestellt.

15

### Schritt 3. Induzierte Mineralisation an der Zahnoberfläche

Die Oberfläche der Zahnscheiben wurde mit etwa 0,5 ml des phoshathaltigen Gels bestrichen. Nach dessen Verfestigung erfolgte eine Bedeckung mit etwa 0,5 ml des zusatzfreien Gels. Die Zahnscheibe wurde  
20 in ein einseitig verschlossenes Plastikrohr eingefügt und in einer Calciumlösung bei 37 °C gelagert. Das Gel und die Lösung wurden alle 7 Tage erneuert, insgesamt 16 x. Zur Begutachtung der aufgewachsenen Schicht erfolgte ein Aufbruch der Probe senkrecht zur Schnittfläche, um die Schichtdicke ausmessen zu können. Wie die REM-Aufnahme in Abbildung  
25 1 belegt, bildete sich eine gleichmäßige Schicht elongierter Kristallite mit einer Schichtdicke von 7,2 µm. Das entspricht einer Wachstumsgeschwindigkeit von etwa 450 nm/Woche.

### Beispiel 2

30 Die Vorgehensweise erfolgt analog Beispiel 1, jedoch lag die Schnittrichtung der Zahnscheiben weitgehend senkrecht zur Längsachse der Schmelzprismen. Zudem wurde die Probe bei 36 °C gelagert und

- 13 -

täglich nur 60 min der Calciumlösung ausgesetzt. Das Gel ist alle 2 Tage ausgetauscht worden. Die Probe wurde nach 10 Austauschzyklen untersucht. Die REM-Aufnahme (Abbildung 2) zeigt eine gleichmäßige Schicht parallel angeordneter Kristalle, deren Orientierung und Größenordnung der des nativen Schmelzes entspricht. Ein submikrometer großer Randspalt ist zu erkennen. Die Schichtdicke beträgt 2,7  $\mu\text{m}$ . Das entspricht einer Wachstumsgeschwindigkeit von 135 nm/Tag.

### Beispiel 3

Die Zahnvorbereitung erfolgte analog Beispiel 1, die Schnittrichtung der Scheibe lag jedoch weitgehend parallel zur Längsachse der Schmelzprismen. Die Probe wurde bei 37 °C aufbewahrt, die Austauschzyklen entsprechen dem Beispiel 2, jedoch wurde das Gel insgesamt 36 x erneuert. Die REM-Aufnahme (3a) lässt eine gleichmäßige, 15  $\mu\text{m}$  dicke Schicht erkennen. Dabei ergeben sich ineinander gewachsene, strahlige Strukturen, die eine gute Abdichtung der nativen Zahnoberfläche gewährleisten. Der Randspalt zum Zahn ist minimal, kleinste, morphologische Eigenarten der nativen Oberfläche werden vom aufgewachsenen Material abgebildet (analog einem Abdruck). Größe und Morphologie von Schmelzkristallen und aufgewachsenem Fluorapatit sind gleich (Abbildung 3b). Die Wachstumsgeschwindigkeit liegt bei etwa 210 nm/Tag.

### Beispiel 4

Das Vorgehen entspricht Beispiel 2, aber für das Phosphatgel wurden 755,2 mg eingesetzt und das Gel wurde nur 5 x ausgetauscht. Analog dem Beispiel 2 zeigt die REM-Aufnahme (Abbildung 4a) die übereinstimmende Orientierung von Schmelzkristalliten und aufgewachsenem Fluorapatit. Die Kristallite erscheinen jedoch noch nicht vollständig ausgereift. Die Schichtdicke liegt bei 5  $\mu\text{m}$ , das entspricht einer Wachstumsgeschwindigkeit von 500 nm/Tag.

Beispiel 5

Das Vorgehen entspricht dem Beispiel 4a, die Schnittrichtung erfolgte jedoch parallel zur Längsachse der Schmelzprismen und die Probe wurde erst nach 10 Gel-Tauschzyklen untersucht. Die Schicht ist mit 9  $\mu\text{m}$  fast  
5 doppelt so dick, wie die aus Beispiel 4 (vgl. Abbildung 5), was auf die Linearität der Wachstumsgeschwindigkeit hindeutet. Sie wirkt ausgereifter als die Schicht in Beispiel 4. Deutlich ist der fehlende Randspalt zwischen nativem und aufgewachsenem Material. Abbildung 4b zeigt die Aufsicht dieser Schicht, die morphologisch weitgehend repräsentativ für alle  
10 Schichten ist.

Beispiel 6

Um die Synthesebedingungen noch mehr der realen Problematik bei kariesbedingter Zahnhartsubstanzzerstörung anzupassen, wurde in die  
15 Kaufläche eines Prämolaren eine Kavität mit den Ausmaßen (H x B x T) 3 x 3 x 2 mm gebohrt. Die weitere Behandlung entspricht dem Beispiel 3. Die Calciumlösung enthielt jedoch 0,233 mol/l. Die Zahnprobe wurde dann zur Untersuchung so aufgebrochen, dass der Umriss der Kavität zu erkennen ist. Abbildungen 6a + b zeigen deutlich, dass sowohl der Kavitätsboden  
20 als auch die Seitenwände bewachsen sind.

Alle angeführten Synthesemethoden führen zu fest haftenden Fluorapatitschichten, die aufgrund der Kristallmorphologie und Anordnung große Ähnlichkeit zu nativem Zahnschmelz aufweisen. Die Orientierung der  
25 aufwachsenden Kristallite verläuft grundsätzlich senkrecht zur Oberfläche des Substrates. Durch entsprechend häufige Wiederholung der Austauschzyklen lassen sich prinzipiell beliebig dicke Schichten erzeugen.

**Ansprüche**

1. Verwendung
  - 5 (i) eines ersten Gels, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst,
  - (ii) eines zweiten Gels, welches frei von Phosphationen ist, wobei mit diesem zweiten Gel die erste Gelschicht abgedeckt wird und
  - 10 (iii) eines Calciumionen enthaltenden Mediums, zur Herstellung eines Mittels zum Aufwachsen von Apatit auf Zahnmaterial.
2. Verwendung nach Anspruch 1,  
15 d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,  
dass als erstes Gel ein Gelatine-Glycerin-Gel eingesetzt wird.
3. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,  
20 dass das erste Gel weiterhin Fluoridionen enthält.
4. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,  
dass das erste Gel einen pH-Wert von 2,0 bis 6,0 aufweist.
- 25 5. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,  
dass das zweite Gel fluoridionenfrei ist.
- 30 6. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t ,



- 16 -

dass das zweite Gel ausgewählt wird aus Gelatine-Glycerin-Gelen, Polysaccharid-Gelen oder Carboxymethylcellulose-Gelen.

7. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
5       dadurch gekennzeichnet,  
dass man als Calciumionen enthaltendes Medium eine Calciumionen  
enthaltende Lösung oder ein Calciumionen enthaltendes Gel einsetzt.
8. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
10       dadurch gekennzeichnet,  
dass das Calciumionen enthaltende Medium einen pH-Wert von 6 bis  
8 aufweist.
9. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
15       dadurch gekennzeichnet,  
dass man das Zahnmaterial vor dem Auftragen des ersten Gels  
entfettet, anätzt oder/und spült.
10. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
20       dadurch gekennzeichnet,  
dass es sich bei dem Zahnmaterial um Humanzähne oder/und  
Zahnschmelz handelt.
11. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
25       dadurch gekennzeichnet,  
dass die Komponenten (i), (ii) und (iii) zur Behandlung von kariösen  
Defekten durch Remineralisation vorgesehen sind.
12. Verwendung nach einem der vorhergehenden Ansprüche,  
30       dadurch gekennzeichnet,  
dass das Zahnmaterial mit einer schützenden Apatitschicht bedeckt  
wird.

- 17 -

13. Zusammensetzung, insbesondere zur Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, umfassend
- a) ein erstes Gel, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst,
  - 5 b) ein zweites Gel, welches frei von Phosphationen ist sowie
  - c) ein Calciumionen enthaltendes Medium.
14. Kit, insbesondere zur Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 12, umfassend
- 10 a) ein erstes Gel, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst,
  - b) ein zweites Gel, welches frei von Phosphationen ist sowie
  - c) ein Calciumionen enthaltendes Medium.
- 15 15. Zusammensetzung nach Anspruch 13 oder Kit nach Anspruch 14, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t , dass die Komponenten (a), (b) oder/und (c) weiterhin wie in einem der Ansprüche 2 bis 8 definiert sind.
- 20 16. Verfahren zum Aufwachsen von Apatit auf Zahnmaterial, umfassend die Schritte
- (i) Auftragen eines ersten Gels, welches Gelatine sowie Phosphationen umfasst,
  - (ii) Auftragen eines zweiten Gels, wobei mit diesem zweiten Gel 25 die erste Gelschicht abgedeckt wird und
  - (iii) Auftragen eines Calciumionen enthaltenden Mediums, wobei ein Aufbau von Apatit an der Oberfläche des Zahnmaterials bewirkt wird.

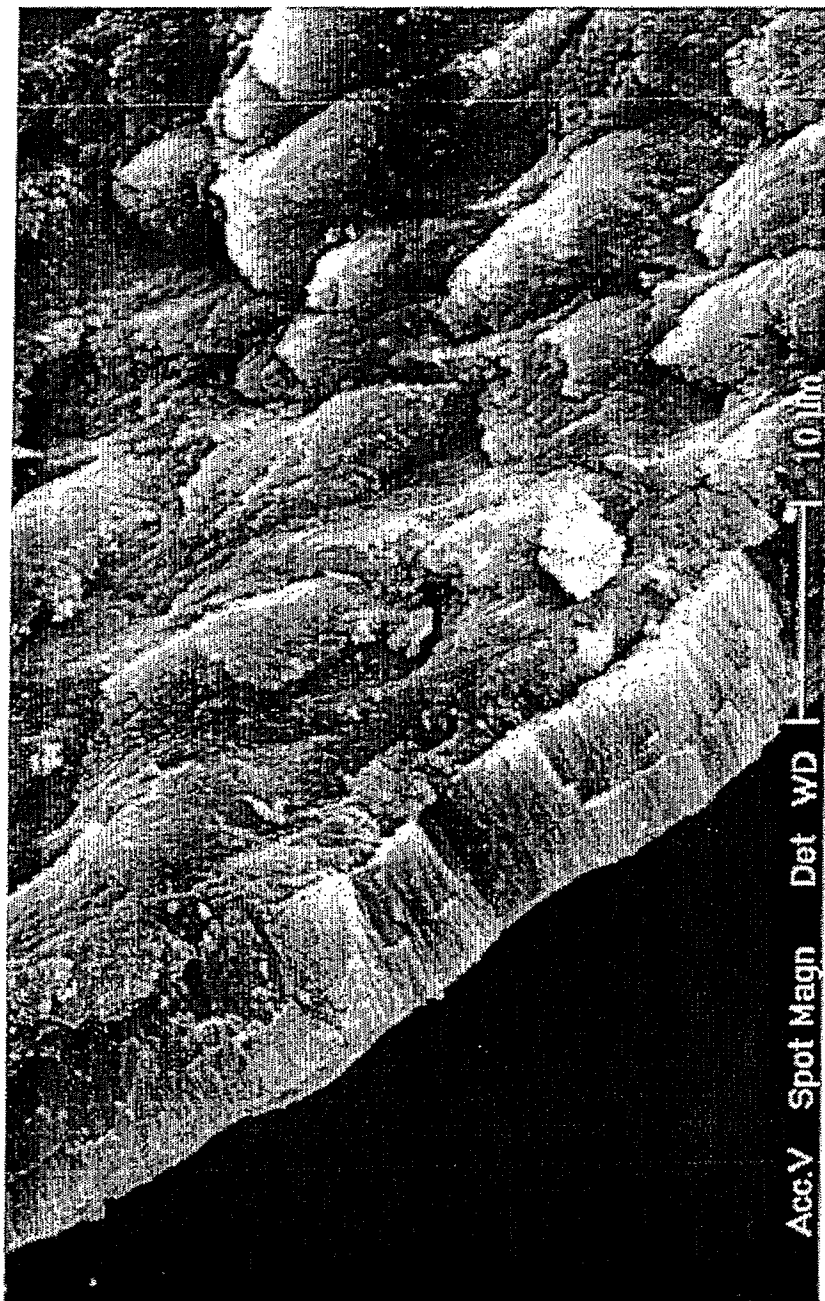


Abb. 1

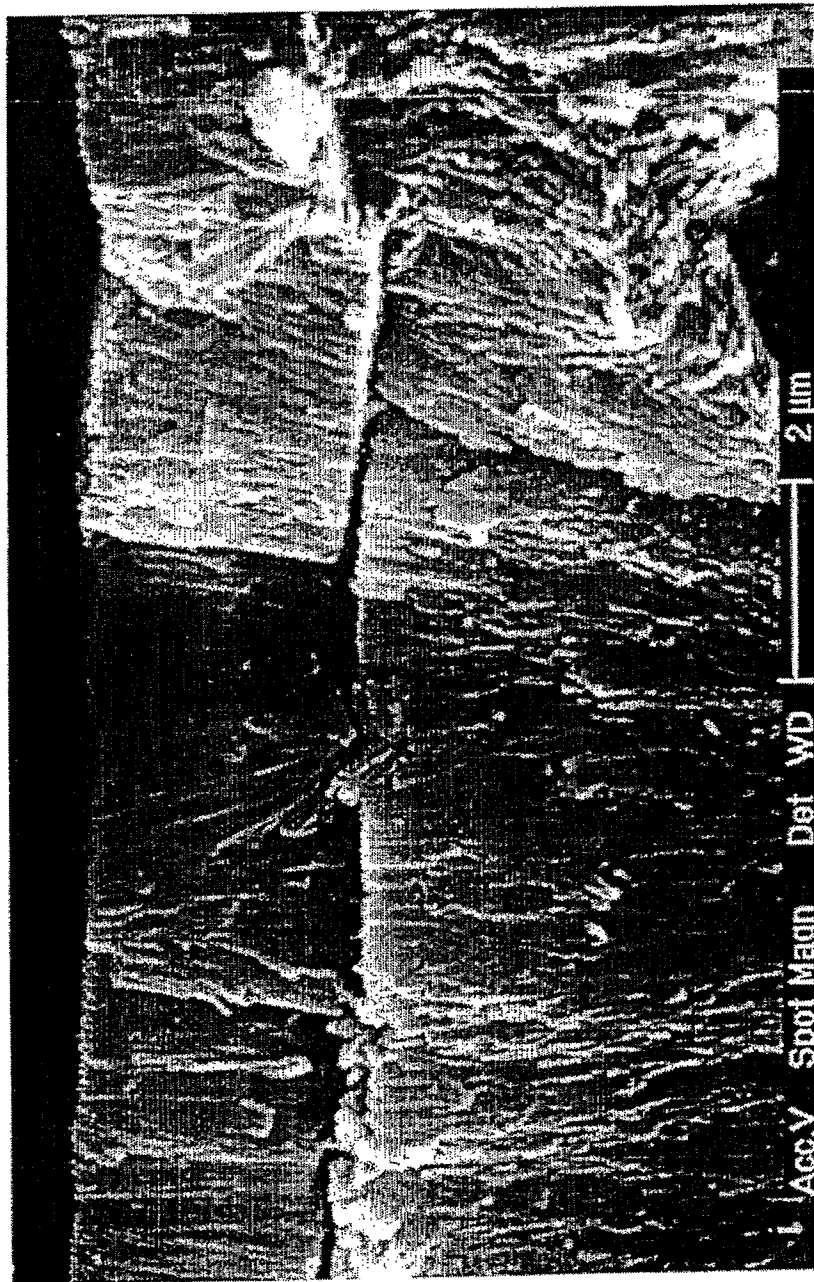


Abb.2



Abb. 3a



Abb. 3b



Abb. 4 a

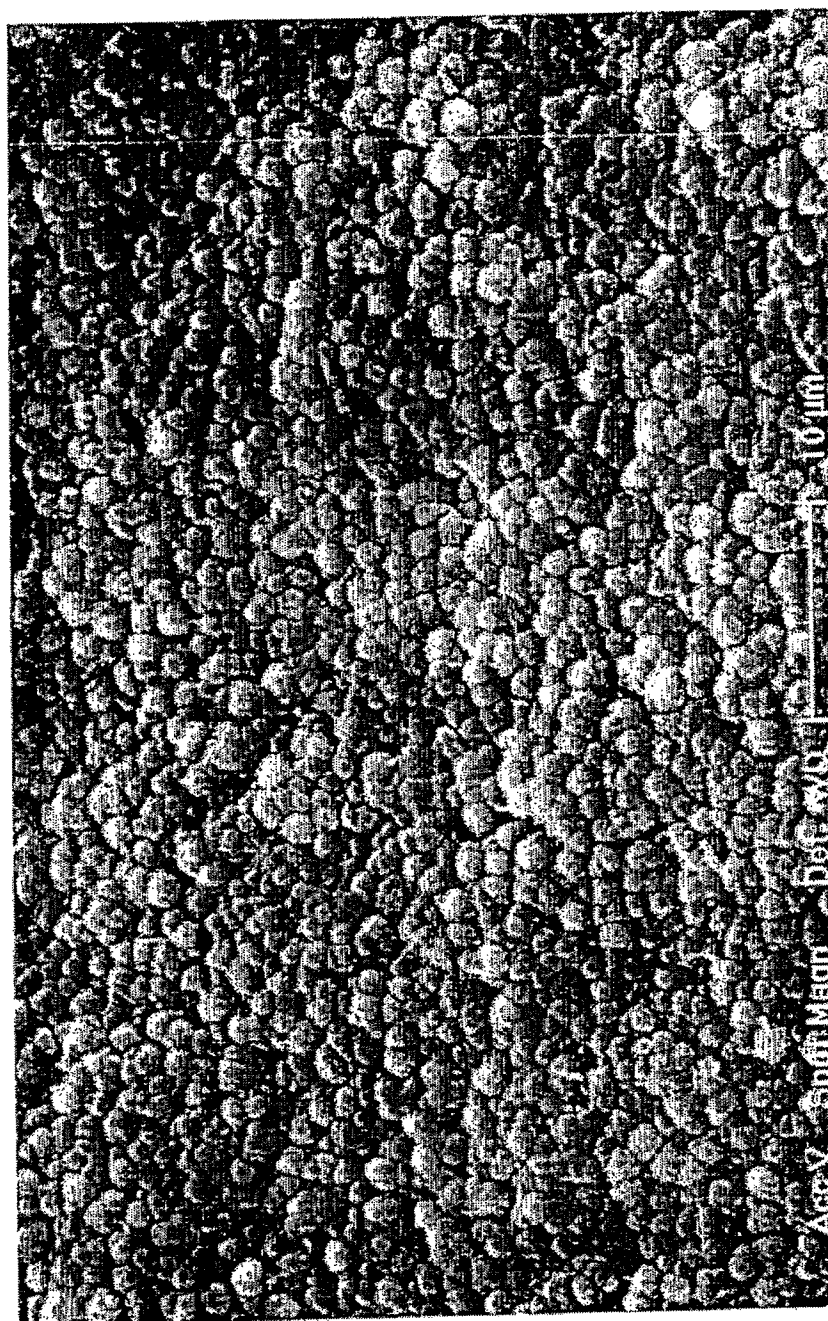


Abb. 4b



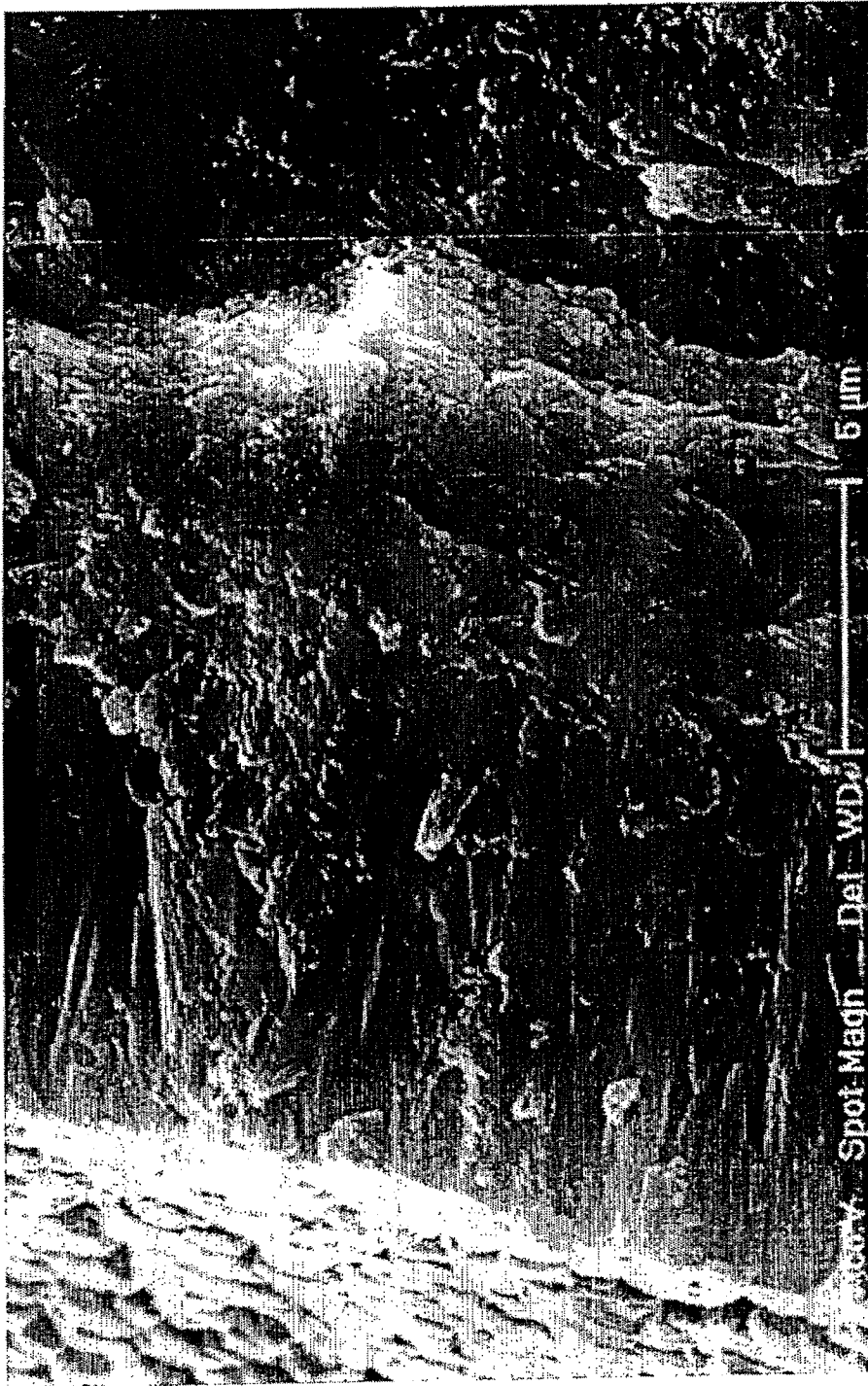


Abb. 5

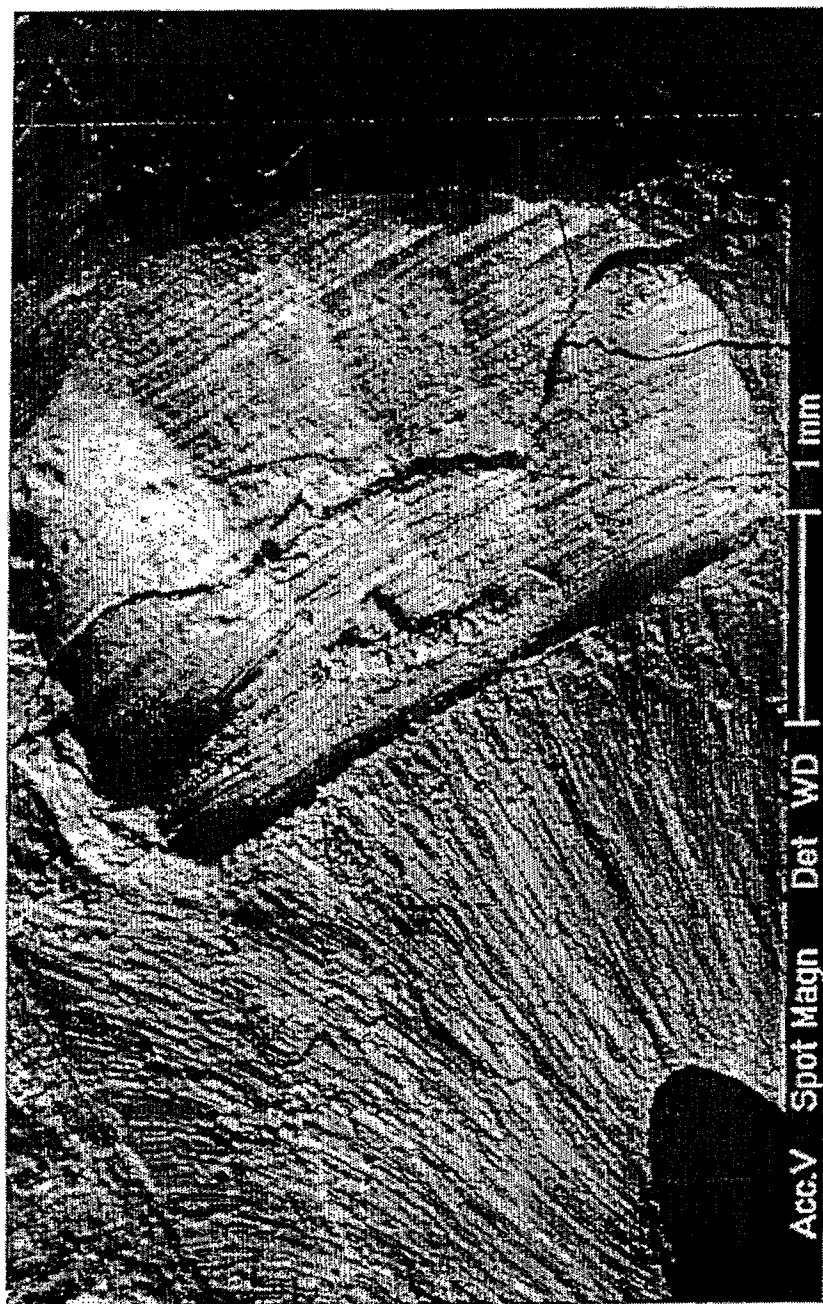


Abb. 6a

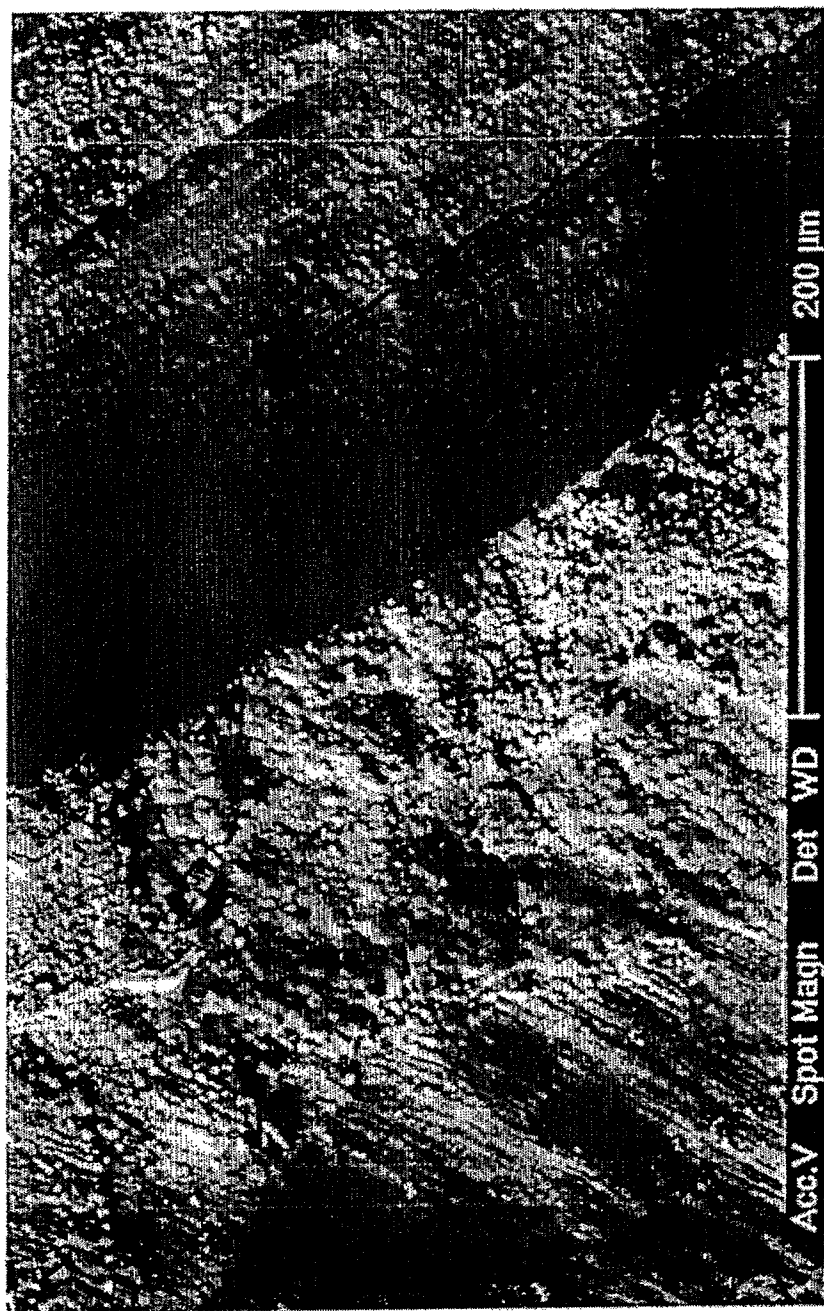


Abb. 6b

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/05430

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K6/033

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 33 03 937 A (EBNER NORBERT DR) 20 June 1984 (1984-06-20) cited in the application the whole document	1-3,5-16
A	DE 23 50 548 A (PROCTER & GAMBLE) 25 April 1974 (1974-04-25) page 1 page 2 page 9, paragraph 2 page 10, paragraph 2	1-3,5, 9-16
A	DE 21 31 666 A (NASA) 10 February 1972 (1972-02-10) page 3, paragraphs 3,4	1
	--- -/--	



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 September 2003

Date of mailing of the international search report

25/09/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.

Authorized officer

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/05430

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 94 10969 A (FOERG FRANZ ;HENKEL KGAA (DE); LASKA HANS (DE); SCHUHMAN KLAUS (D) 26 May 1994 (1994-05-26) page 4, paragraphs 3-5 page 5, paragraph 1 ---	1,2
A	WO 98 10736 A (SMITHKLINE BEECHAM CONSUMER ;WIEDEMANN WOLFGANG (DE)) 19 March 1998 (1998-03-19) abstract -----	1

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/EP 03/05430

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
  
**see supplemental Sheet additional matter PCT/ISA/210**
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 03/05430

## Box I.1

Although Claim 16 relates to a method for treatment of the human or animal body, the search was carried out on the basis of the stated effects of the composition.

PCT Rule 39.1(iv) – method for treatment of the human or animal body by therapy.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/05430

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 3303937	A	20-06-1984	AT 372272 B	26-09-1983
			AT 65382 A	15-02-1983
			DE 3303937 A1	20-06-1984
DE 2350548	A	25-04-1974	AT 873073 A	15-06-1977
			AU 6104973 A	10-04-1975
			BE 806060 A1	12-04-1974
			CA 1024449 A1	17-01-1978
			CH 600877 A5	30-06-1978
			DE 2350548 A1	25-04-1974
			ES 419619 A1	01-08-1976
			FR 2202697 A1	10-05-1974
			GB 1452125 A	13-10-1976
			IE 38371 B1	01-03-1978
			IT 1053523 B	10-10-1981
			JP 49094187 A	06-09-1974
			NL 7314072 A	16-04-1974
			PH 11647 A	08-05-1978
DE 2131666	A	10-02-1972	BE 768964 A1	03-11-1971
			CA 943323 A1	12-03-1974
			DE 2131666 A1	10-02-1972
			FR 2099284 A5	10-03-1972
			IT 996529 B	10-12-1975
			NL 7108839 A	28-12-1971
			US 3679360 A	25-07-1972
WO 9410969	A	26-05-1994	DE 4237500 A1	11-05-1994
			AT 166225 T	15-06-1998
			BG 99417 A	30-06-1995
			CA 2148909 A1	26-05-1994
			CN 1090751 A ,B	17-08-1994
			CZ 9501172 A3	15-11-1995
			DE 59308590 D1	25-06-1998
			DK 666730 T3	08-03-1999
			WO 9410969 A1	26-05-1994
			EP 0666730 A1	16-08-1995
			ES 2117153 T3	01-08-1998
			FI 952110 A	03-05-1995
			HR 931109 A1	30-06-1995
			HU 70078 A2	28-09-1995
			JP 8502988 T	02-04-1996
			LT 1437 A ,B	15-05-1994
			LV 11427 A	20-08-1996
			NO 950229 A	20-01-1995
			PL 308767 A1	21-08-1995
			SI 9300478 A	30-06-1994
			SK 56595 A3	08-01-1997
			US 5605677 A	25-02-1997
WO 9810736	A	19-03-1998	AT 207732 T	15-11-2001
			AU 715121 B2	20-01-2000
			AU 4553897 A	02-04-1998
			BR 9712036 A	18-01-2000
			CN 1235537 A	17-11-1999
			CZ 9900889 A3	11-08-1999
			DE 69707905 D1	06-12-2001



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/05430

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9810736	A	WO 9810736 A1	19-03-1998
		EP 0929287 A1	21-07-1999
		HU 9904169 A2	28-04-2000
		JP 2001500144 T	09-01-2001
		KR 2000036080 A	26-06-2000
		NZ 334537 A	22-12-2000
		PL 332118 A1	30-08-1999
		US 6010684 A	04-01-2000
		ZA 9708178 A	12-03-1998

---

PCT/EP 03/05430

IPK 7 A61K6/033

IPK 7 A61K

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

## Bevollmächtigter Bediensteter

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/05430

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>WO 94 10969 A (FOERG FRANZ ;HENKEL KGAA (DE); LASKA HANS (DE); SCHUHMANN KLAUS (D)  26. Mai 1994 (1994-05-26)  Seite 4, Absätze 3-5  Seite 5, Absatz 1</p> <p style="text-align: center;">----</p>	1,2
A	<p>WO 98 10736 A (SMITHKLINE BEECHAM CONSUMER ;WIEDEMANN WOLFGANG (DE))  19. März 1998 (1998-03-19)  Zusammenfassung</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen  
PCT/EP 03/05430

### Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr. —  
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich  
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
2. ☐ Ansprüche Nr. —  
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen,  
daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr. —  
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

### Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. —
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

## WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.1

Obwohl der Anspruch 16 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Zusammensetzung.

-----

Fortsetzung von Feld I.1

Regel 39.1(iv) PCT – Verfahren zur therapeutischen Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers

# INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/05430

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 3303937	A	20-06-1984	AT 372272 B	26-09-1983
			AT 65382 A	15-02-1983
			DE 3303937 A1	20-06-1984
DE 2350548	A	25-04-1974	AT 873073 A	15-06-1977
			AU 6104973 A	10-04-1975
			BE 806060 A1	12-04-1974
			CA 1024449 A1	17-01-1978
			CH 600877 A5	30-06-1978
			DE 2350548 A1	25-04-1974
			ES 419619 A1	01-08-1976
			FR 2202697 A1	10-05-1974
			GB 1452125 A	13-10-1976
			IE 38371 B1	01-03-1978
			IT 1053523 B	10-10-1981
			JP 49094187 A	06-09-1974
			NL 7314072 A	16-04-1974
			PH 11647 A	08-05-1978
DE 2131666	A	10-02-1972	BE 768964 A1	03-11-1971
			CA 943323 A1	12-03-1974
			DE 2131666 A1	10-02-1972
			FR 2099284 A5	10-03-1972
			IT 996529 B	10-12-1975
			NL 7108839 A	28-12-1971
			US 3679360 A	25-07-1972
WO 9410969	A	26-05-1994	DE 4237500 A1	11-05-1994
			AT 166225 T	15-06-1998
			BG 99417 A	30-06-1995
			CA 2148909 A1	26-05-1994
			CN 1090751 A ,B	17-08-1994
			CZ 9501172 A3	15-11-1995
			DE 59308590 D1	25-06-1998
			DK 666730 T3	08-03-1999
			WO 9410969 A1	26-05-1994
			EP 0666730 A1	16-08-1995
			ES 2117153 T3	01-08-1998
			FI 952110 A	03-05-1995
			HR 931109 A1	30-06-1995
			HU 70078 A2	28-09-1995
			JP 8502988 T	02-04-1996
			LT 1437 A ,B	15-05-1994
			LV 11427 A	20-08-1996
			NO 950229 A	20-01-1995
			PL 308767 A1	21-08-1995
			SI 9300478 A	30-06-1994
			SK 56595 A3	08-01-1997
			US 5605677 A	25-02-1997
WO 9810736	A	19-03-1998	AT 207732 T	15-11-2001
			AU 715121 B2	20-01-2000
			AU 4553897 A	02-04-1998
			BR 9712036 A	18-01-2000
			CN 1235537 A	17-11-1999
			CZ 9900889 A3	11-08-1999
			DE 69707905 D1	06-12-2001

**INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT**

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/05430

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9810736 A		WO 9810736 A1	19-03-1998
		EP 0929287 A1	21-07-1999
		HU 9904169 A2	28-04-2000
		JP 2001500144 T	09-01-2001
		KR 2000036080 A	26-06-2000
		NZ 334537 A	22-12-2000
		PL 332118 A1	30-08-1999
		US 6010684 A	04-01-2000
		ZA 9708178 A	12-03-1998